Aus dem Tierphysiologischen Institut der Universität München.
Vorstand: Professor Dr. J. Paechtner.

Vergleichende Untersuchungen über die

Bestimmung der O_2-Kapazität des Blutes

von Pferden, Rindern, und Schweinen mit den Methoden nach Barcroft, Winterstein, van Slyke und dem Ponderovolumeter nach Paechtner.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorgelegt von

Gabriel Schweiger

Tierarzt aus Weilheim Obb.

Druck: A. Koch, Weilheim.

1938

Aus dem Tierphysiologischen Institut der Universität München.
Vorstand: Professor Dr. J. Paechtner.

Vergleichende Untersuchungen über die

Bestimmung der O_2-Kapazität des Blutes

von Pferden, Rindern, und Schweinen mit den Methoden nach Barcroft, Winterstein, van Slyke und dem Ponderovolumeter nach Paechtner.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorgelegt von

Gabriel Schweiger
Tierarzt aus Weilheim Obb.

Druck: A. Koch, Weilheim.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Referent: Prof. Dr. J. Paechtner.

Inhalt

I. Einleitung.

Bekanntlich verwendet man zur qantitativen Hämoglobinbestimmung absolute und relative Methoden. Von den absoluten sind die wichtigsten die Spektrophotometrie, (Vierordt, Hüfner), die Hämoglobinbestimmungen nach dem Eisengehalt und die gasometrischen Methoden (Haldane, Barcroft, van Slyke, Winterstein). Die Spektrophotometrie, bei der der Extinktionskoeffizient einer Hämoglobinlösung bestimmt wird, ist technisch sehr anspruchsvoll und wird daher wenig benützt. Die Hämoglobinbestimmung auf Grund des Eisengehaltes eines Blutes liefert bei sachgemäßer Anwendung zuverlässige Werte. Als Standartmethoden zur quantitativen Hämoglobinbestimmung kommen außerdem die gasometrischen in Betracht, die auch in erster Linie zur Eichung der relativen Methoden benützt werden. Diese benützen die Farbintensität des Blutes als Maßstab für seinen Hämoglobingehalt. Die zu untersuchende Blutprobe oder Hämoglobinlösung wird mit einem Testobjekt von bekanntem Hämoglobinwert verglichen. Dazu dient einmal die Methode nach Tallquist, dann die Methoden, die auf dem Verdünnungsprinzip beruhen (Hoppe-Seyler, Sahli) und schließlich Methoden, die das Schichtdickenprinzip benützen (Hämometer nach v. Fleischl-Miescher, Kolorimeter von Autenrieth und Königsberger, von Bürker u. a.) Um die Fehler, die bei Farbvergleichen natürlich nicht auszuschalten sind, zu vermeiden, kann die Farbintensität auch photoelektrisch z. B. mittels einer Selenzelle gemessen werden, eine Methode deren Vervollkommnung wohl bald zu erwarten sein dürfte.

Da nun wiederholt, zuletzt von Krupsky und Mitarbeitern (20) Angaben über Differenzen der gasometrischen Methoden untereinander gemacht worden sind, erschien es angezeigt, mit verschiedenen gebräuchlichen Verfahren zur O_2-Kapazitätsbestimmung (Barcroft, van Slyke, Winterstein, Ponderovolumeter nach Paechtner) Vergleichsuntersuchungen durchzuführen, um beurteilen zu können, mit welchen Abweichungen und unter welchen Bedingungen diese Methoden verläßliche Werte liefern.

II. Bestimmung der O_2 Kapazität nach Barcroft.

a) Schrifttum.

Haldane (14) und fast gleichzeitig v. Zeynek (52) beobachteten, daß der Blutfarbstoff nach Zusatz von Ferrizyankalium während der Umbildung in Methämoglobin seinen locker gebundenen Sauerstoff abgibt. Haldane begründete darauf eine Methode der Bestimmung der Sauerstoffmenge im Blut, die die Verwendung der Blutgaspumpe entbehrlich macht. In vergleichenden Untersuchungen stellten Haldane (15) und später Fr. Müller (26) fest, daß die Resultate dieser Ferrizyanidmethode mit den durch Auspumpen gewonnenen Werten gut übereinstimmen. Barcroft und Haldane (2) konstruierten dann einen verbesserten Apparat mit zwei Flaschen und je einem offenen Manometer und schließlich hat Barcroft (3) die Methode in eine Differentialmethode umgewandelt.

Über die Genauigkeit und Verläßlichkeit der Ferrizyanidmethode treten bereits am Anfang ihrer Anwendung sich widersprechende Ansichten auf. Haldane (15) und Fr. Müller (26) betonen, daß für das Erzielen einer hinlänglichen Genauigkeit vollständige Hämolyse sowie vollständiger Temperaturausgleich vor den Ablesungen nötig sind. Die zuweilen auftretenden, oft ziemlich bedeutenden Divergenzen werden verschiedenen Ursachen zugeschrieben. Haldane nimmt an, daß der bakterielle Stoffwechsel Einfluß habe; Fr. Müller vermutet, daß das Vorhandensein einer wechselnden Menge oxydierbarer Stoffe im Blut eine wesentliche Rolle spiele. v. Zeynek betont, daß die freiwerdende Sauerstoffmenge deshalb zu klein ist, weil am Ende des Schüttelns bei erhöhtem Partiardruck des Sauerstoffs auch ein größerer Bruchteil des Gases in der Flüssigkeit absorbiert bleibt. Weiter haben die im Birneninhalt enthaltenen oxydablen Stoffe, die Sauerstoff zehren, großen Einfluß. Haldane erwidert dazu, daß die Ergebnisse von v. Zeynek, der kein Frischblut verwendete, durch die Anwesenheit von Bakterien zu niedrig sind. Auch Hüfner (18) findet zu niedrige Werte für die freiwerdende Sauerstoffmenge. Haldane wendet dagegen ein, daß die Basis der Hüfnerschen O_2-Kapazitätsbestimmungen, nämlich seine spektrophotometrischen Beobachtungen ungewiß sind. Barcroft (3 u. 4) gibt selbst folgende Ursachen für die bei der Ferrizyanidmethode auftretenden Fehler an:

1. daß eine Blutprobe nicht genügend geschüttelt wird, bis der letzte Gasrest entweicht,
2. daß der Temperaturausgleich und die Konstanz schlecht sind;
3. daß das Blut nur unvollständig hämolysiert ist.

Sogi Masuda (25) glaubt, daß der gefundene Wert deshalb zu niedrig sein kann, weil ein Teil des Blutsauerstoffes mit Ammoniak eine chemische Verbindung eingeht, was er bewiesen hat durch eine Volumenabnahme beim Hämolysieren bei geschlossenen Hähnen. Auch Gram (12) macht Angaben über zu niedrige Werte bei der Ferrizyanidmethode.

Yamakito Matajura (52) stellte Untersuchungen an über den Einfluß gerinnungshemmender Mittel auf die bei der Ferrizyanidmethode erhaltenen Werte der O_2-Kapazität des Blutes und fand, daß Zusätze zu frischem Blut die O_2-Kapazität vermindern, Zusätze zu bereits hämolysiertem Blut aber keinen Einfluß haben, also durch diese Zusätze nur die Hämolyse beeinträchtigt wird. Zuletzt nun haben Abeloos, Barcroft u. a. (1) die Behauptung, daß mit der Ferrizyanidmethode zu niedrige Werte sich ergeben, widerlegt durch umfangreiche vergleichende Untersuchungen mit Sauerstoff und Stickstoff.

Stickan, F. (58) hat auf Anregung von Paechtner erstmals vergleichende Untersuchungen über die Hb.-Bestimmungen nach dem kolorimetrischen und gasometrischen Prinzip durchgeführt und gute Übereinstimmung beider Resultate gefunden, aber ebenfalls betont, daß gutes Schütteln der Blutprobe, sauberes und sorgfältiges Arbeiten sowie peinlichster Temperaturausgleich nötig sind.

Als durchschnittlichen Fehler bei der Ferrizyanimethode gibt Barcroft (3) selbst etwa 2,5% an. Fr. Müller (26) arbeitet mit 1% Genauigkeit, was aber von Engelkes (10) als zu optimistisch angesprochen wird, der selbst in 8 Parallelbestimmungen eine Genauigkeit von 1,3% erreicht. Bela Deutsch (8) nennt als durchschnittlichen Fehler 2,5%. O. Müller (28) fand als Schwankung der Ergebnisse weniger als ± 3%, in der Regel lagen seine Abweichungen innerhalb ± 1%. G. Huber 17) konnte seine Werte in der Regel innerhalb 2% reproduzieren.

b) Methodik.

aa) Apparatur.

Benützt wurde bei den nachfolgenden Untersuchungen das Barcroftsche Differentialmanometer, und zwar der größere zur Analyse von 1 ccm Blut gebaute Apparat. In diesem Differentialmanometer kompensieren sich Druckänderungen, die nicht auf Sauerstoffentwicklung beruhen, (z. B. Temperaturänderungen während der Untersuchung) gegenseitig, da sie in beiden Gefäßen gleich groß sind und den Manometerstand nicht verändern.

Der Apparat besteht aus einem U-förmigen Kapillarrohr, an dessen Enden zwei vollkommen gleiche birnenförmige Flaschen angeschlossen werden; durch Dreiweghähne können Verbindungen der Kapillaren mit den Birnen oder mit der Außenluft hergestellt werden. Eine genaue Beschreibung der Apparatur sowie Abbildungen sind in Rona, Praktikum der Physiologischen Chemie 1929, 2. Teil S. 26 ff zu finden. Als Manometerflüssigkeit wurde die von Brodie angegebene Sperrflüssigkeit verwendet, die besteht aus 500 ccm Aqua dest. + 23 g Natrium chloratum + 5 g Natrium taurocholicum + etwas alkoholische Thymollösung (zur Verhinderung des Bakterienwachstums) und deren spezifisches Gewicht, bestimmt mit der Westphalschen Wage, bei 16° 1034 betrug und sich sehr bewährte, da sie im Manometer leicht fließt. Als Hahnfett wurde verwendet Ramseyfett zäh oder weich, je nach Außentemperatur.

bb) Konstantenbestimmung.

Die Bestimmung der Gefäßkonstanten wurde nach der Methode von Münzer und Neumann vorgenommen, die ebenfalls in Rona S. 29 ff beschrieben ist. Die Gefäßkonstante wurde für Birnenfüllung von 0, 1, 2, 3,2 4 und 5 ccm bestimmt, und die gefundenen Werte durch eine Kurve (s. Anhang) verbunden, sodaß auch einmal evtl. nötige Zwischenwerte abgelesen werden konnten. Für jede Birnenfüllung machte ich zehn Einzelbestimmungen (s. Anhang) und berechnete daraus den in Tabelle I angegebenen Mittelwert. Gleichzeitig enthält diese Tabelle Angaben über die größten aufgetretenen Schwankungsbreiten und vermittelt so gleichzeitig einen Begriff über die Reproduzierbarkeit der Messungen mit dem Barcroft-Apparat, auf die ich im einzelnen später noch zu sprechen komme.

Tabelle I.

Werte für die Gefäßkonstante bei verschiedenen Volumen.

Zahl der Bestimmungen	Füllung ccm	Eingefülltes Gasvolumen ccm	Mittel für K	Maximaldifferenz	
				absolut	in %
10	0,0	0,085 — 0,181	3,979	0,140	3,5
10	1.0	0,155 — 0,201	3,918	0,165	4,0
10	2,0	0,144 — 0,216	3,781	0,069	1,8
17	3,2	0,118 — 0,236	3,569	0,041	1,15
10	4,0	0,168 — 0,222	3,533	0,104	3,0
10	5,0	0,167 — 0,204	3,469	0,082	2,3

cc. Untersuchungsgang.

In jedes der Schüttelgefäße des Apparates kamen aus einer vor CO_2 geschützten Bürette 2 ccm einer NH_3 Lösung von 4 ccm conc. NH_3 (spez. Gewicht 0,88) in 1 Liter Wasser und je 1 ccm Blut, das durch Eintauchen der Pipettenspitze unter die Ammoniaklösung unterschichtet wurde. Der Auslauf der 1 ccm Pipette für Rinderblut wurde durch Wägung und pyknometrische Dichtebestimmung des Blutes für bestimmte Auslaufzeiten (15, 30, 60, 90 Sekunden) genau ermittelt.

Tabelle II.

Auslauf der 1 ccm-Pipette bei verschiedenen Auslaufzeiten.

Auslaufzeit:	15	30	60	90	Sekunden
Volumen:	0,973	0,984	0,989	0,990	ccm

Zur besseren Hämolyse wurde eine Spur Saponin zugesetzt, die Flaschen dann mittels der gut gefetteten Schliffe an das Manometer angeschlossen und nun so lange geschüttelt, bis vollständige Hämolyse eingetreten war. In die angeschmolzenen rechtwinkeligen Röhrchen wurde auf der einen Seite 0,2 ccm kaltgesättigte wässrige Kaliumferrizyanidlösung, auf der anderen Seite 0,2 ccm CO_2-freies dest. Wasser eingefüllt. Bei geöffneten Hähnen wurde nun der Apparat so in ein Wasserbad gehängt, daß die beiden Schüttelbirnen möglichst vollkommen mit Wasser bedeckt waren. Das Wasserbad wurde durch ein Rührwerk auf möglichst konstanter Temperatur gehalten. Die Temperaturschwankungen während des Versuchs waren immer kleiner als $0{,}1^0$ C. Nach einiger Zeit wurden die beiderseitigen Menisken abgelesen, die Hähne geschlossen und nach etwa 2 Minuten der Meniskenstand kontrolliert. War er unverändert geblieben, wurde der Apparat aus dem Wasserbad genommen und durch Drehen der Schüttelbirnen erst das Wasser, dann die Kaliumferrizyanidlösung mit dem Blut zusammengebracht und etwa 5 Minuten lang geschüttelt. Dann kam der Apparat wieder in das Wasserbad bis zum Temperaturausgleich, wurde wieder herausgenommen und geschüttelt und das Schütteln nach jedesmaligen Temperaturausgleich solange wiederholt, bis der Meniskenstand unverändert blieb, was in der Regel nach 20—30 Minuten eintrat.

dd. Beispiel einer Berechnung.

Das Produkt aus der Manometerdifferenz p (mm) und der Apparatkonstanten k ergibt das Volumen V des frei werdenden Gases:

$$V = p \cdot k \text{ (cmm)}.$$

Dieses ist zu reduzieren auf 0^0 und 760 mm Druck und schließlich ist noch der Pipettenauslauf a zu berücksichtigen, sodaß sich die in 1 cm enthaltene, auf Normalbedingungen reduzierte Menge Sauerstoff V_0 berechnet:

$$V_0 = V \cdot \frac{B}{760} \cdot \frac{273}{T} \cdot \frac{1}{a} \text{ (cmm)},$$

worin T die Versuchstemperatur im absoluten Maß (273+t) bedeutet. Da die O_2-Kapazität allgemein als die Anzahl ccm Sauerstoff, die in 100 ccm Blut enthalten sind, angegeben wird so ist der für 1 ccm gefundene Wert noch mit $\frac{100}{1000}$ zu mul-

tiplizieren, sodaß sich die O_2-Kapazität durch Division von V_0 durch 10 ergibt. Soll aus der O_2-Kapazität der Hämoglobingehalt berechnet werden, so ergibt sich auf Grund der Voraussetzung, daß im Oxyhämoglobin auf 1 Atom Eisen 1 Molekül molekular gebundener Sauerstoff kommt (Hüfner), die Beziehung:

$$Hb = \frac{O_2\text{-Kapazität}}{\text{Spez. } O_2\text{-Kapazität.}}$$

Die spezifische Sauerstoffkapazität ist diejenige Menge Sauerstoff in ccm, die 1 g Hämoglobin zu binden vermag. Sie wurde von Hüfner auf Grund des von ihm mit 0,335 angenommenen Eisengehaltes des Hb. zu 1,34 berechnet. Aus den neuesten Bestimmungen des Fe-Gehaltes von Hämoglobinkristallen der pflanzenfressenden Haussäuger, die J. Schneider (37) am hiesigen Institut ausgeführt hat (0,327 Prozent Fe) ergibt sich eine spezifische Sauerstoffkapazität von 1,31 ccm Sauerstoff pro g Hb. Ich habe für die Berechnung des Hämoglobingehaltes aus meinen Messungen diese Zahl verwendet, die um 2% höhere Hb-Werte liefert als der Hüfnersche Umrechnungsfaktor.

c) Eigene Untersuchungen.

Material: Verwendet wurde entweder von Schlachttieren aus der Halsschnittstelle aufgefangenes oder bei lebenden Tieren durch Punktion der V. jugularis gewonnens Blut, dem zur Verhinderung der Gerinnung entweder Oxalat zugesetzt, oder das defibriniert wurde. Das Blut wurde möglichst rasch am Entnahmetag und höchstens noch am nächsten Tag untersucht und während dieser Zeit im Eisschrank aufbewahrt. Zur Sättigung mit Sauerstoff wurden 3-5 ccm Blut in einem Rundkolben etwa 10 Minuten geschwenkt und dabei in den Kolben langsam Sauerstoff eingeleitet. Wie ich später mit Hilfe des van Slyke-Apparates feststellte, ändert sich dabei die Menge des gelösten Stickstoffs nicht merklich.

Untersuchte Tiere:

A	Kuh, Schwarzbuntes Tieflandrind	8 J.	Geburtsh. Kl.	(Hochträchtig)
B	Ochs, Höhenfleckvieh	8 J.	Schlachttier	(sehr gut genährt)
C	Stier, "	6 J.	"	(gut genährt)
D	Kuh, "	9 J.	"	(mager)
E	Kuh, "	7 J.	"	(abgemagert)

Von jeder dieser Blutproben wurden mindestens 2 meist 3-4 einmal 9 Parallelbestimmungen durchgeführt. Im Fall B wurde aus dem defibrinierten Blut eine Hämoglobinlösung hergestellt nach den Angaben von Barcroft: Die Atmungsfunktion des Blutes (6) S. 59 ff. Von allen Fällen hat gleichzeitig Schneider (37) Hämoglobinbestimmungen auf Grund des Eisengehaltes des Gesamtblutes vorgenommen, deren Ergebnisse ebenfalls in Tabelle III vermerkt sind.

Tabelle III.

Fall	Blut	O_2-Kapaz. (ccm O_2 in 100 ccm Blut)	Hb-Geh. aus O_2-Kap. (g%)	Hb-Geh. aus Fe-Bestimg.	Prozentuale Abweichungen, O_2-Kap. = 100
A	Vollblut	15,4	11,7	11,5	— 1,8 %
B	Hb-Lösung	25,6	19,4	19,8	+ 2,2 %
C	Vollblut	20,9	15,9	16,2	+ 1,9 %
D	"	13,6	10,4	11,5	+ 11,0 %
E	"	10,9	8,3	9,3	+ 11,0 %

Es ergeben sich Abweichungen im Hämoglobingehalt bei dessen Bestimmung nach der O_2-Kapazität und nach dem Eisengehalt. Da die Ergebnisse nach Barcroft gegen die von van Slyke, wie ich später feststellen konnte, um 2,8 Prozent zu niedrig sind, kann in den Fällen B und C von einer guten Übereinstimmung der gasometrischen und Fe-analytischen Vergleichsbestimmungen gesprochen werden. In den Fällen A, D und E sind die Unterschiede jedoch so erheblich, daß erst eine größere Anzahl von Untersuchungen entscheiden könnte, ob zufällige Versuchsfehler oder grundsätzliche Differenzen der beiden Methoden hierfür verantwortlich zu machen sind. Da diese Bestimmungen am Anfang meiner Untersuchungen ausgeführt wurden und ich damals die anderen gasometrischen Methoden, mit denen eine Kontrolle möglich gewesen wäre, noch nicht eingeübt hatte, möchte ich kein allzugroßes Gewicht auf diese Vergleichsbestimmungen legen.

Zur Feststellung der Reproduzierbarkeit meiner Bestimmungen wurden im Falle B neun Parallelbestimmungen gemacht; gleichzeitig prüfte ich in diesem Falle die Frage, ob durch das Einleiten von Sauerstoff in den Kolben vollständige Sauerstoffsättigung erreicht wird und leitete deshalb in Versuch 6, 7, 8 und 9 Bombensauerstoff längere Zeit unter stetigen Schwenken direkt in das Blut. Nachstehend die Ergebnisse.

Tabelle IV.

Versuch	1	2	3	4	5	6	7	8	9
O_2 Kapazität	15,2	15,4	15,5	15,5	15,3	15,3	15,4	15,3	15,4
Mittel			15,4					15,35	

Die gefundenen Werte liegen innerhalb 2 Prozent. Durch das direkte Einleiten von Sauerstoff in das Blut kann eine noch höhere Sättigung nicht erzielt werden.

Die Mittelwerte aus Versuch 1—5 und 6—9 sind praktisch identisch. Es genügt also zur vollständigen Sättigung, daß der Luftraum im Kolben reich an Sauerstoff ist. Zudem hat das direkte Einleiten von Sauerstoff in das Blut den Nachteil daß eine starke Schaum- und Blasenbildung eintritt, die beim Pipettieren stört und zu Fehlern führen kann. Einen weiteren Überblick über die Reproduzierbarkeit der Messungen mit dem Barcroft-Apparat erhält man auch durch Betrachtung der in Tabelle 1 aufgeführten Konstantenbestimmungen. Die Differenz der dort bei je 10 Vergleichsbestimmungen beobachteten Schwankungsbreiten betrug maximal 4 Prozent; meist waren es in jeder Reihe nur ein Wert und hier meistens der erste, der diese erhebliche Abweichung vom Mittel zeigte. Im allgemeinen wird man die Schwankungsbreite der Methode wohl nicht zu groß mit 2,5 Prozent annehmen können, wie es auch Barcroft selbst angibt.

III. Bestimmung der O_2-Kapazität nach van Slyke.

a) Schrifttum.

Da die Ferrizyanidmethode, wie aus dem in Kap. II aufgeführten Einwänden zu ersehen ist, nicht in allen Fällen den Sauerstoff quantitativ zu erfassen gestattet, kehrte man mancherorts wieder zur Blutgaspumpe zurück. Van Slyke (42-47) arbeitete durch Kombination beider Verfahren eine neue Methode aus, die genaue Kapazitätsbestimmungen gestattet und doch nicht mehr Blut benötigt als der Barcroft-Apparat. Zunächst konstruierte er einen Apparat, der auf volumetrischer Messung der Gasmenge beruht. In der Folge wandelten van Slyke und Neill (40, 42, 43) dieses Verfahren in ein manometrisches um. Mit dem alten Verfahren hat dieses die Extraktion der Gase durch Schütteln im Toricellischen Vakuum gemein; aber während dort das Gasvolumen stets auf Atmosphärendruck gebracht und auf einer Skala abgelesen wird, wird hier das Volumen auf eine willkürlich festgesetzte, aber immer gleiche Größe gebracht und der dazu erforderliche Druck manometrisch gemessen. Dieses zweite manometrische Verfahren erlaubt, im Gegensatz zum früheren volumetrischen, Volumen und Druck so zu wählen, daß die Fehlergrenzen beider ungefähr gleich sind. Später haben dann van Slyke und Hiller (46, 47) das Verfahren auch für die CO-Bindungsmethode ausgearbeitet, die auf der Fähigkeit des Hämoglobins, ebenso viel CO wie O_2 zu binden, beruht. In der Folge wurden zahlreiche Untersuchungen mit dem van Slyke Apparat durchgeführt. So bestimmten Elliot, Hall, Hugget (9) die O_2-Kapazität des fötalen Blutes von Ziegen. Rabinovitch (36) verwendete die Methode bei seinen Untersuchungen über Tagesschwankungen im Hämoglobin-Prozentgehalt. Greppi, Enrico (13) führte quantitative Hämoglobinbestimmungen mit der gasometrischen Methode nach van Slyke durch. Foster und Johnson (11) bestimmten die O_2-Kapazität und den Hämoglobingehalt normalen menschlichen Blutes nach dieser Methode. Orias (31,

32) prüfte die verschiedenen Hämoglobinbestimmungsmethoden (Sahli-Leitz, Hellige, Newcomer, Bürker) durch van Slykes Gasometrie. Sendroy jun (39) stellte Untersuchungen über die Möglichkeit der Verdünnung des Blutes bei Anwendung des Apparates nach van Slyke-Neill an und sieht in der Anwendung von Verdünnungen des Blutes mit physiologischer Kochsalzlösung große Vorteile, da es möglich ist, in der Kammer des van Slyke-Neill'schen Apparates ohne Hämolyse und bei Gegenwart von Oktylalkohol ohne störende Schaumbildung Sättigung des Blutes zu erreichen und man gegenüber der umständlichen Methode der Sättigung des Blutes in besonderen Gefäßen bei gleichen Resultaten Ersparnis an Apparatur, Zeit und Blut hat. Eine Reihe von Verfassern, wie Kruse (21), Harrington (16), Poulton (35), Sendroy jun. und Liu (38) u. a. haben Angaben über Modifikationen und Verbesserungen des van Slykeschen Gasanalysenapparates gemacht, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Auf die Resultate, die Huber und Ostermayer erhielten, gehe ich in Kap. VI näher ein.

b) Methodik.

aa) Apparatur.

Da mir ein nach dem manometrischen Prinzip arbeitender van Slykeapparat nicht zur Verfügung stand, benützte ich eine nach den Angaben von Professor J. Paechtner gebaute Anordnung, die sich, ebenfalls auf dem manometrischen Prinzip beruhend, von dem van Slykeschen Standardapparat bezüglich der Messung des Gasdruckes wesentlich unterscheidet. Unser Apparat besteht aus zwei Hauptteilen:

1. aus einer gewöhnlichen van Slykeschen Gaspipette, die — an einem beweglichen Stativ — mit einem Schüttelmotor verbunden ist, und
2. aus der Manometer-Vorrichtung.

Beide Teile sind durch einen Kapillarschliff verbunden bzw. trennbar, sodaß die Gaspipette mittels des angeschlossenen Motors allein geschüttelt werden kann. Die Gaspipette ist das Modell, wie es in Rona, Praktikum der Physiologischen Chemie, 2. Teil, S. 59, zur volumetrischen Bestimmung der Alkalireserve des Blutes beschrieben ist. Es besteht aus einem Becher h zum Einmessen der Reagenzien, der durch den Zweiweghahn b mit dem Gasraum verbunden ist. Dieser ist abgeteilt in einem oberen kapillären, 1 ccm fassenden und in Hundertstel ccm untergeteilten Teil f und anschließend den eigentlichen Gasentwicklungsraum g (Vakuumraum), der kurz über dem ihn abschließenden Zweiweghahn a die Marke 50 ccm trägt. Die zweite Bohrung des Zweiweghahnes b führt zu dem Schliff o, der durch Druckschlauch Glas an Glas angeschlossen ist. Die Elastizität der Gummiverbindung ist zur Vermeidung von Bruchgefahr unentbehrlich. Nach unten schließt sich an den Hahn a ein für unsere Versuche belangloses engeres und ein weiteres Rohr an, die beide unten durch ein Y-förmiges Glasstück miteinander verbunden sind, das schließlich in der Regulierungsvorrichtung m (Quetschhahn) endet. Darunter folgt ein gewöhnlicher Hahn c zum Absperren des

Quecksilbers gegen des Niveaugefäß und schließlich ein Druckschlauch mit dem Niveaugefäß. Dieses und die ganze Gaspipette sind mit Quecksilber gefüllt.

Der neue Manometerteil unserer Versuchsanordnung besteht aus einer U-förmigen Manometerkapillare k, die einerseits durch den Dreiweghahn e mit einem Kompensationsthermobarometer r, andererseits durch den Schliff o und Hahn b mit der Gaspipette g verbunden werden kann. Der Dreiweghahn e an der rund 60 ccm fassenden Kompensationsbirne gestattet Druckausgleich mit der Atmosphäre. Ebenso dient Hahn d zur Herstellung von Atmosphärendruck zwischen Manometer und Gaspipette. An der unteren Biegung der Kapillare ist zur genauen Einstellung des Quecksilberstandes im Manometer ein Schraubenquetschhahn n angeschlossen. Im unteren Teil des rechten Manometerschenkels ist eine etwa 0,5 ccm fassende kugelförmige Erweiterung eingeblasen, und schließlich befindet sich im oberen Teil der gleichen Kapillare eine zweite kugelförmige Erweiterung, deren Größe so bemessen ist, daß für die zu erwartende Gasmenge eine möglichst große Steighöhe in der linken Manometerkapillare erzielt wird. Etwas über der Kugel s ist beiderseits die Marke 0 angebracht und das Manometer in der Ausgangsstellung bis zu dieser Marke mit Quecksilber gefüllt. In die linke Manometerkapillare kann über das Quecksilber noch ein Tropfen Amylalkohol zur Verminderung der Reibung eingefüllt werden, dessen Höhe dann später bei der Ablesung berücksichtigt werden muß.

bb) Konstantenbestimmung.

Die Gaspipette ist durch den gut gefetteten, mit Federn gesicherten Schliff o mit dem Manometer verbunden. Die Hähne b, d und e sind zur Außenluft geöffnet; das Manometer ist auf die Marke o eingestellt und völlig ausgeglichen. In den Gasraum g werden 5 ccm Wasser eingefüllt, um eine Wiederabsorption von Gas durch die vorhandene Flüssigkeitsmenge schon jetzt bei der Konstantenbestimmung zu berücksichtigen. Die dabei aber auftretende Wasserdampfspannung, die den Manometerstand beeinflussen würde, wird dadurch ausgeglichen, daß auch in die künstliche Atmosphäre r etwas Wasser eingefüllt wird, sodaß sich — gleiche Temperatur vorausgesetzt — die beiderseits auf das Manometer einwirkende Wasserdampfspannung wieder kompensiert.

In der Kapillare f wird nun der Flüssigkeitsmeniskus erst durch Heben und Senken der Niveaubirne ungefähr und dann nach Schließen des Hahnes c durch Feineinstellung mit dem Quetschhahn m auf irgend eine Marke, z. B. 0,420 genau eingestellt. Dann wird durch Hahn b die Verbindung der Gaskapillare f mit dem Manometer hergestellt, Hahn e so gestellt, daß die Manometerkapillare nur noch mit der künstlichen Atmosphäre und nicht mehr mit der Außenluft in Verbindung steht, und Hahn d gegen die Außenluft geschlossen. Das in der Gaskapillare f befindliche Luftvolumen wird zunächst wieder durch Heben des Niveaugefäßes und dann durch Feineinstellung mit dem Quetschhahn in das Manometer hinübergedrückt, und zwar wird dabei der Flüßigkeitsmeniskus auf die oberste, noch gut ablesbare Marke in

der Gaskapillare f eingestellt, die dann in allen späteren Versuchen natürlich wieder genau eingehalten werden muß. Ich benützte die Marke 0,020 und hatte dann, wenn etwa die erste Einstellung des Flüssigkeitsmeniskus auf Marke 0,420 stattfand, in Wirklichkeit ein Gasvolumen von 0,400 ccm (bei eben herrschendem Druck und Temparaturverhältnissen) hinübergedrückt. Nach Schließen des Hahnes a wird im Manometer, in dem nun im linken Schenkel das Quecksilber über 0, im rechten unter 0, also in der kugelförmigen Erweiterung steht, durch Drehen des Quetschhahnes n der Quecksilberstand in der rechten Manometerkapillare wieder auf 0 gebracht und schließlich im linken Schenkel der Überdruck abgelesen. Durch das Wiedereinstellen des Quecksilbers im rechten Manometerschenkel auf die Marke 0 wird erreicht, daß bei allen Messungen zwischen dem Flüssigkeitsspiegel der Gaspipette und dem Quecksilberniveau im Manometer gleiches Volumen besteht.

Die Berechnung der Konstanten wird am besten an einem Beispiel erläutert:

Anfangsstellung des Flüssigkeitsmeniskus	0,420 ccm
Endstellung „ „	0,020 ccm
Wirklich herübergedrücktes Gasvolumen V =	0,400 ccm

z. B. bei 711,3 mm Hg, reduziert, und [illegible] 21,8 C.

Daraus errechnet sich das auf 0° und 760 mm Druck reduzierte Volumen

$$V_0 = \frac{0{,}400 \cdot 711{,}3 \cdot 273}{760 \cdot 294{,}8} \text{ ccm}$$

$$= 0{,}347 \text{ ccm}$$

Diese Gasmenge ergibt im Manometer einen Überdruck von z. B. 185,8 mm; über dem Quecksilber sind aber noch 6 mm Amylalkohol (spez. Gewicht 0,82) was einer Quecksilbersäule von $\frac{6{,}0 \cdot 0{,}8}{13{,}6}$ = 0,36 mm Hg. also rund 0,4 mm Hg. entspricht und zu obiger Ablesung noch zu addieren ist. Der durch das eingeführte Gasvolumen bewirkte Überdruck p ist also:

$$p = 185{,}8 + 0{,}4 = 186{,}2 \text{ mm Hg.}$$

Die Apparatekonstante K errechnet sich dann nach der Formel

$$K = \frac{V_0}{p} = \frac{347{,}0}{186{,}2} = 1{,}864$$

Auf diese Weise wurde, wie in Tabelle V zu ersehen ist, die Apparatkonstante mit verschiedenen Gasvolumen bestimmt und den späteren Versuchen mit Blut bzw. deren Auswertungen zugrunde gelegt.

Tabelle V.

V cmm	B, red., mm Hg	t	Vo cmm	p mm	K
250	710,5	21,5	216,65	115,9	1,8694
300	710,5	"	259,94	138,9	1,8717
350	710,5	"	301,31	162,6	1,8654
400	711,3	"	347,03	186,2	1,8638
450	711,3	"	390,41	208,9	1,8689
250	710,5	"	216,65	115,4	1,8774
300	710,5	"	259,94	138,9	1,8717
350	710,5	"	301,31	162,4	1,8677
400	711,3	"	347,03	186,0	1,8659
450	711,3	"	390,41	208,6	1,8716

Mittelwert: K = 1,869 ± 0,35%.

Aus der geringen Schwankung der Ergebnisse, um nur etwa 0,7% ist zu ersehen, daß der Ablesefehler unseres Apparates ein äußerst geringer ist, daß er also im Prinzip sehr genau arbeitet. Um zu untersuchen, ob das Anschließen und Trennen der beiden Apparatsteile im Schliff o einen Einfluß auf den angezeigten Überdruck in einer bestimmten Gasmenge hat, wurden bei einer früheren Konstantenbestimmung in nur unwesentlich anderer Versuchsanordnung mehrere Versuchsreihen A, B, C durchgeführt, zwischen denen jeweils eine Trennnung im Schliff o vorgenommen wurde. Gleichzeitig wurde in weiteren Versuchsreihen D und E die Frage geprüft, ob sich eine Veränderung des Druckes einer bestimmten Gasmenge ergibt, wenn sich einmal in der Gaspipette bei der Eichung nur Quecksilber befindet und im anderen Fall in den Gasraum g noch eine etwa den späteren Versuchsverhältnissen entsprechende Menge Flüssigkeit eingefüllt ist. Bei den in nachstehender Tabelle VI aufgeführten Messungen ist also einmal zwischen jeder Versuchsreihe A, B, C, D, E eine Apparattrennung vorgenommen worden und weiter die Druckbestimmung in Reihe A, B, C ohne Flüssigkeitsfüllung, in Reihe D, E aber mit 5 ccm Wasserfüllung im Gasraum g vorgenommen worden.

Tabelle VI.

Vol. cmm	Überdruck in mm Hg A	B	C	D	E
200	37,8	38,0	37,6	36,8	37,0
300	73,2	73,3	73,5	73,0	72,8
350	89,4	90,0	90,0	88,9	88,7
400	106,4	107,0	106,5	105,8	105,7
500	136,8	136,7	136,2	135,1	134,4
600	164,3	164,2	164,9	163,0	163,6

Es ergibt sich, daß das Zusammensetzen des Apparates keinen Einfluß auf den angezeigten Druck p hat (Reihe A, B, C), daß aber die Anwesenheit einer Flüssigkeitsmenge in der Gaspipette deutlichen Einfluß hat, und zwar um etwa 1% niedrigere Werte ergibt. Es wurde deshalb, wie dort schon beschrieben, bei den endgültigen Konstantenbestimmungen in die Gaspipette 5 ccm Wasser eingefüllt.

cc) Untersuchungsgang.

Aus dem Becher h werden 7 ccm einer Kaliumferrizyanidlösung (3 g Kaliumferrizyanid + 3 g Saponin + 3 g Oktylalkohol + Aqua dest. ad 1000,0) in die vollständig mit Quecksilber gefüllte Pipette gesogen. Nun wird Hahn b geschlossen, das Flüssigkeitsniveau bis zur Marke 50 gesenkt und 3 Minuten lang geschüttelt, wobei die Gase der Lösung entweichen. Von dieser entgasten Kaliumferrizyanidlösung werden 4 ccm wieder in den Becher gehoben und Hahn b geschlossen. Jetzt wird eine Pipette mit 2.0 ccm Blut, deren Spitze zur Abdichtung gegen den Becher h mit einem Stück Gummischlauch überzogen ist, in die Kaliumferrizyanidlösung eingetaucht, fest an den Grund des Bechers h gepreßt und das Blut durch Senken der Niveaubirne langsam in die Pipette gesogen. Nachdem man noch mit 2 ccm Kaliumferrizyanidlösung nachgespült hat, wird Hahn b geschlossen, der Quecksilberspiegel bis zur Marke 50 gesenkt und etwa 10 Minuten lang geschüttelt. Dann wird das Flüssigkeitsniveau wieder so weit gehoben, daß noch stark negativer Druck herrscht, und aus dem Becher h, in dem sich 2 ccm vorher entgaster 1 n NaOH befinden, 1 ccm davon langsam einlaufen lassen. Das Flüssigkeitsniveau wird nun auf die etwa zu erwartende Gasmenge eingestellt und das Manometer im Schliff o angeschlossen. Die 0-Stellung im Manometer wird kontrolliert und die Hähne d und e gegen die Außenluft abgeschlossen. Jetzt wird Hahn b langsam gegen das Manometer geöffnet und genau so wieder wie bei der

Konstantenbestimmung der Flüssigkeitsmeniskus auf die Marke 0,02 eingestellt. Nach Schließen des Hahnes a wird wieder durch Drehen des Quetschhahns n das Quecksilber in der rechten Manometerkapillare auf 0 eingestellt und in der linken Kapillare der Überdruck p′ abgelesen. Das hieraus unter Berücksichtigung des Pipettenauslaufes a berechnete Gasvolumen in 100 ccm Blut

$$V' = \frac{K \cdot p' \cdot 100}{2a}$$

enthält aber neben dem Sauerstoff aus dem Oxyhämoglobin noch den physikalisch gelösten, beim Evakuieren freiwerdenden Sauerstoff und Stickstoff. Für den letzteren überzeugte ich mich, daß der in der Literatur (Rona, Praktikum der Physiologischen Chemie, 2. Teil, Seite 67) angegebene und allgemein der Korrektur von van Slyke-Messungen zugrundegelegte Wert 1,2 Volumprozent auch für meine Blutproben Gültigkeit hatte, dadurch, daß ich das freigesetzte Gas (O_2 und N_2) anstatt es in das Manometer überzuführen, durch alkalische Pyrogallollösung absorbierte. Es blieben von den Blutgasen aus 2 ccm Blut 0,024 — 0,026 ccm nicht absorbierter Gasrest entsprechend 1,2 — 1,3 Volumprozent Stickstoff. Den physikalisch gelösten Sauerstoff konnte ich nicht eigens bestimmen; ich subtrahierte für ihn nach der bei Rona, Seite 67 angegebenen Korrektionstabelle 0,7 Volumprozent, so daß die gesamte abzuziehende Korrektur von dem gefundenen Gasvolumen V′ 1,9 Volumprozent beträgt. Es ist also die

$$O_2\text{-Kapazität} = (V' - 1{,}9) \text{ Volumprozent.}$$

c) Eigene Untersuchungen.

Zunächst wurde in 8 Parallelbestimmungen am gleichen Blut (Entnahme und Vorbehandlung wie in Kapitel II beschrieben) festgestellt, mit welcher Genauigkeit die Ergebnisse übereinstimmen.

Tabelle VII.

Versuch	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittelwert
O_2-Kap. Vol. %	18,1	18,3	18,5	18,3	18,1	18,6	18,1	18,6	18,3

Daraus ist zu ersehen, daß die Werte innerhalb 2,7% reproduzierbar sind. An Fehlerquellen kommen eine ganze Reihe in Betracht. Unerläßlich ist es natürlich, vor jedem Versuch die Gaspipette auf Undichtigkeit zu prüfen, am einfachsten dadurch, daß bei geschlossenem Hahn b durch Senken der Niveaubirne der Gasraum g bis zur Marke 50 evakuiert wird; nach einigen Minuten hebt man das Niveaugefäß wieder: wenn der Apparat dicht und gasfrei ist, so füllt ihn das Quecksilber vollständig aus und stößt an den oberen Hahn b mit metallischem Klang an. Weiter müssen die verwendeten Lösungen, besonders die Natronlauge

zuverlässig entgast sein, um Fehler von dieser Seite zu vermeiden. Einige Übung erfordert ferner das Einpipettieren des Blutes sowie das Einlaufenlassen der Natronlauge bei stark negativem Druck. Daß natürlich das Blut vollständig mit Sauerstoff gesättigt und vor dem Pipettieren gut durchmischt werden muß, gilt in gleicher Weise auch für die anderen Methoden der O_2-Kapazitätsbestimmungen. Weitere Versuche sind im Kapitel VI aufgeführt. Noch mehr als bei den anderen Methoden müssen hier, da die Anwendung eines Wassermantels wie bei der van Slykeschen Originalapparatur zu umständlich gewesen wäre, alle Temperaturschwankungen möglichst ausgeschaltet werden, vor allem Wärmestrahlungen aus der Umgebung, z. B. Gasflammen, Sonenbestrahlung usw. Wir fanden es zweckmäßig, vor die ganze Apparatur eine entsprechend große Glasplatte zu stellen, die zwar die Bedienung der Hähne und Klemmen noch gut gestattet, aber alle Wärmestrahlungen vom Körper des Untersuchenden fernhält.

IV. Bestimmung der O_2-Kapazität nach Winterstein.

a) Schrifttum.

Winterstein (51) hat einen Apparat zur Mikroblutgasanalyse beschrieben, der auf einer Kombination der Prinzipien, die den gasanalytischen Methoden von Barcroft und Haldane einerseits und von Petterson andererseits zugrundeliegen, beruht. Nach seinen Aufstellungen ist die relative Genauigkeit seiner Sauerstoffkapazitätsbestimmungen mit der Ferrizyanidmethode etwa die gleiche wie beim Barcroft-Haldaneschen Apparat. Bei nur 2 bis 3 Parallelbestimmungen beträgt seine größte Differenz 0,7 Volumprozent. Zur Prüfung der absoluten Genauigkeit des Apparates wurden Vergleichsanalysen mit der Pumpe ausgeführt, wobei sich ergab, daß dort, wo durch die Ferrizyanidmethode tatsächlich der ganze Sauerstoff freigemacht wird, auch die Übereinstimmung eine befriedigende war, während sich in anderen Versuchen mehr abweichende Werte ergaben, deren Ursachen in dieser Arbeit an anderer Stelle (Kapitel II) erörtert sind. Der Vorteil der nachfolgend beschriebenen Versuchsanordnung besteht nun darin, daß die ungeheure Empfindlichkeit des Pettersonschen Kompensationsverfahrens noch eine genaue Analyse sehr kleiner Blutmengen gestattet und die eingetretenen Volumänderungen direkt abgelesen werden können, also jede Eichung des Apparates fortfällt. Weitere Angaben in der Literatur über die Verwendung des Wintersteinschen Apparates zu Sauerstoffkapazitätsbestimmungen sind nicht vorhanden.

b) Methodik.

aa) Apparatur.

Der Apparat (Abbildung siehe Biochemische Z. 46, 1912, Seite 441) besteht aus 2 Fläschchen, die miteinander kommunizieren durch eine mit Millimeterteilung versehene Kapillare, in der ein als Index dienender Tropfen enthalten ist. Das rechte Fläschchen wird als Kompensationsgefäß bezeichnet, das bei Abschluß gegen die Außenluft und gleiche Einstellung des Indextropfens ein gänzlich abgeschlossenes Gasvolumen enthält, unabhängig von Änderungen des äußeren Druckes und der

Außentemperatur. Das linke Fläschchen ist das Analysengefäß, das das zu untersuchende Blut enthält, in welchem der O_2-Gehalt nach der Ferrizyanidmethode bestimmt wird. Das Analysengefäß kann durch entsprechende Hahnstellungen in Verbindung gesetzt werden mit der Außenluft oder mit der Indexkapillare oder mit dem kleinen, seitlich angeschmolzenen Quecksilbermanometer, dessen dem Apparat zugekehrter Schenkel aus einer feinen, in Kubikzentimeter geteilten Kapillare besteht, während der andere breitere Schenkel nach oben einen mit einem Glasstopfen verschlossenen Gummischlauch trägt. An diesem ist eine Schraubklemme angebracht, die das Volumen des über dem Quecksilber befindlichen Luftraumes zu variieren und so das Quecksilber in der Kapillare zu verschieben gestattet. Ein im Analysengefäß entstehendes oder verschwindendes Gasvolumen kann durch entsprechende Volumenänderung in der Kapillare direkt gemessen werden, wenn man den Quecksilberstand mit der Schraube so reguliert, daß der Indextropfen in der Anfangsstellung bleibt.

bb) Untersuchungsgang.

In beide Birnen werden je 0,4 ccm einer Ammoniaklösung von 4 ccm konzentr. NH_3 auf 1000 ccm Wasser gegeben und dann mittels einer in Kubikmillimeter geteilten Pipette möglichst langsam und sorgfältig 0,100 ccm des zu untersuchenden Blutes unter die Ammoniaklösung der Analysenflasche geschichtet. Darauf werden gleichzeitig auf beide Fläschchen die eingeschliffenen Glasstopfen aufgesetzt, an denen Schälchen angeschmolzen sind, die etwa 0,2 ccm kalt gesättigte wässerige Kaliumferrizyanidlösung enthalten. Bei zur Außenluft geöffneten Hähnen wird durch leichtes Neigen des Apparates der Indextropfen — ich verwendete hierzu mit gutem Erfolg Benzoesäuremethylester — an die gewünschte Stelle der Skala gebracht. Hierauf wird der Apparat bis an die Hähne und die Indexkapillare in ein Wasserbad gehängt. Dann werden die Hähne so gestellt, daß die Fläschchen nur mehr mit der Indexkapillare und dem Manometer kommunizieren. Jetzt erfolgt durch Drehen der Schraubklemme die genaue Einstellung des Indextropfens, und es wird die Stellung des Quecksilbers in der Manometerkapillare abgelesen. Nach Ausgleich der Druck- und Temperaturverhältnisse werden beide Hähne schräg gestellt, so daß sie sämtliche Teile des Apparates gegeneinander abschließen. Jetzt kommt der Apparat aus dem Wasserbad, wird zunächst solange geschüttelt, bis das Blut vollkommen hämolysiert ist, und schließlich wird durch Neigen des Apparates die in den Schälchen enthaltene Kaliumferrizyanidlösung eingegossen und dann etwa 5 Minuten lang kräftig geschüttelt. Der Apparat wird wieder in das Wasserbad gehängt und zunächst nur der Hahn des Analysengefäßes so gestellt, daß Verbindung mit Manometer und Indexkapillare besteht. Dann wird durch entsprechende Schraubendrehung das Quecksilber auf den Stand gebracht, der dem zu erwartenden Volumen beiläufig entspricht, und erst jetzt wird auch der Hahn des Kompensationsgefäßes geöffnet. Die noch eintretende Indexverschiebung wird wieder korrigiert und nun in Abständen von 3 bis 5 Minuten nach jeweiligem Schütteln der Quecksilberstand solange abgelesen, bis er konstant geblieben ist, was in 10 bis 20 Minuten eintritt. Das abgelesene Gasvolumen braucht nur noch auf 0^0 und 760 mm Druck reduziert zu werden.

c) Eigene Untersuchungen.

In sechs Parallelbestimmungen wurde zuerst die Genauigkeit ermittelt, mit der die Ergebnisse an einer Blutprobe übereinstimmen.

Tabelle VIII.

Versuch	1	2	3	4	5	6	Mittelwert
O_2-Kap. Vol. %	17,5	17,7	17,4	17,2	17,7	17,3	17,5

Die größte Differenz beträgt 0,5, also etwa 3%. Als Fehlerquellen kommen bei dieser Methode wohl nur Pipettier- und Ablesefehler in Betracht, und die relative Genauigkeit könnte bei mehr Übung wohl noch gesteigert werden. Bei sorgfältigem Einstellen der Menisken und Vermeidung aller Ablesefehler gibt der Wintersteinsche Apparat genaue Resultate und hat dazu noch den großen Vorteil einfacher Handhabung. Weitere Untersuchungen sind im Kapitel VI aufgeführt.

V. Bestimmung der O_2-Kapazität mit dem Ponderovolumeter.

a) Schrifttum.

Unter Zugrundelegung des druckvolummetrischen Prinzips hat Paechtner (34) zur Messung einer bei einer chemischen Reaktion entstehenden Gasmenge eine als Ponderovolumeter (P.V.M.) bezeichnete Apparatkonstruktion angegeben und mit seinen Mitarbeitern Baustaedt (55), Borgmann (56), Ehlers (57), Waller (58), Stärker (48), Luy (23) u. a. zu verschiedenen Zwecken (Stickstoffbestimmungen, Gärungsversuche) benützt. Das heute benützte Modell ist im Prinzip eine einschenkelige Vorrichtung zur Messung von Gasdrucken. Stärker (48) benützte das P.V.M. zur Stickstoffbestimmung mittels Bromlauge an Harnstoff und einigen anderen stickstoffhaltigen organischen Körpern. Luy (23) hat mit dem P.V.M. gasometrische Mikrobestimmungen von Wasserstoffsuperoxyd, Stickstoffverbindungen (Harnstoff, Ammonsulfat) und Gärungskohlendioxyd durchgeführt. Als Fehlergrenze führt Luy, dessen gründliche Bearbeitung dieser Fragen besondere Erwähnung verdient, bei seinen Parallelversuchen im Durchschnitt ± 1% an. Sauerstoffkapazitätsbestimmungen mit dem Ponderovolumeter wurden bisher nicht veröffentlicht, ein Hinweis auf eine diesbezügliche Eignung findet sich bei Paechtner (54).

b) Methodik.

aa) Apparatur (siehe Abbildung).

Im Hals eines Entwicklungskölbchens befindet sich ein mit einer kurzen Rille versehener Schliff, der einen als Manometer ausgearbeiteten Schliffstopfen aufnehmen kann. Durch eine mit kurzem, hochstehendem Glasröhrchen versehene Öffnung kommuniziert der Innenraum dieses Stopfens durch die erwähnte Rille mit dem Gasraum des Entwicklungsgefäßes. Das bis auf den Boden des Schliffstopfens reichende Steigrohr trägt Millimetereinteilung und ist in dem Schliffstopfen eingeschmolzen. Zum Unterschied von Stärker und Luy war für meine Zwecke als Manometerflüssigkeit Brodielösung zweckmäßiger als Quecksilber. In sie taucht das Steigrohr des Schliffstopfens ein. Bei der Bildung neuer Gasmoleküle im Entwicklungskölbchen äußert sich der dadurch neu auftretende Druck durch entsprechendes Steigen der Flüssigkeit im Manometer.

Um die Technik des P.V.M. zu erläutern, sei zunächst die von Paechtner eingeführte Nomenklatur erwähnt. „Urvolumen" ist das ursprüngliche Fassungsvermögen eines P.V.M., festzustellen durch Auswiegen mit Wasser, wobei die Manometerröhre bis zur 0-Marke zu füllen ist. In den Manometerstopfen kommt die Sperrflüssigkeit, deren Volumenwert aus der eingefüllten Gewichtsmenge errechnet wird. Durch Abzug dieses von der Manometerflüssigkeit eingenommenen Raumes vom Urvolumen ergibt sich das „Arbeitsvolumen", das ist der Wert des für die analytische Arbeit zur Verfügung stehenden Raumes, der eine unveränderliche Größe darstellt. Zweckmäßig ist es, die Tara des Stopfens zu ermitteln, wodurch die richtige Füllung jederzeit nachzuprüfen ist. Übrigens kann durch Variation der Menge der Sperrflüssigkeit im Manometerstopfen eine Anzahl im Arbeitsvolumen gleich großer P.V.M. hergestellt werden. Das „Beschickungsvolumen" ist die Volumengröße, die als Summe aller in das P.V.M. eingeführten festen und flüssigen Körper (Reaktionsflüssigkeit, zu zersetzende Substanz, Glaseimerchen) — mit Ausnahme der Sperrflüssigkeit — resultiert. Die Differenz zwischen Arbeitsvolumen und Beschickungsvolumen ist dann das Volumen des Gasraumes, in dem sich die druckändernde Wirkung der neu auftretenden Gasmoleküle abspielt; es heißt „Wirkungsvolumen". Diese Wirkung kann nun entweder nach den Gasgesetzen berechnet oder auch unter den Arbeitsbedingungen durch direkte Eichung bestimmt werden. In beiden Fällen müssen die Werte für die Steighöhen auf die Anfangsverhältnisse hinsichtlich Druck und Temperatur durch ein „Thermobarometer" reduziert werden, das ein mit Entwicklungsflüssigkeit in denselben Raumverhältnissen beschicktes P.V.M. darstellt. Barometer- und Außentemperaturschwankungen während des Versuches bedingen Veränderungen im Manometerstand des Thermobarometers, die mit umgekehrtem Vorzeichen beim Versuchsapparat als Korrektur anzubringen sind.

Ist v das Wirkungsvolumen eines P.V.M., p die abgelesene und eventuell korrigierte Steighöhe in Millimeter nach dem Versuch, t die Versuchstemperatur, so ist das auf 0° und 760 mm Druck reduzierte, neu entstandene Gasvolumen

$$V_0 = \frac{v \cdot p}{760\,(1 + \alpha t)}$$

Für denselben Apparat und für eine bestimmte Temperatur ist die Größe

$$\frac{v}{760\,(1 + \alpha t)} = \text{konstant} = k,$$

so daß sich dann die Rechnung nach der Formel

$$V_0 = k \cdot p$$

durchführen läßt.

bb) Konstantenbestimmung.

Die Eichung der P.V.M., d. h. die Bestimmung der Konstanten k erfolgt zweckmäßig durch die quantitative Sauerstoffabspaltung aus Wasserstoffsuperoxyd durch Kaliumpermanganat in schwefelsaurer Lösung analog folgender Gleichung:

$$2\ KMnO_4 + 5\ H_2O_2 + 3\ H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2\ MnSO_4 + 8\ H_2O + 5O_2.$$

Um bei unserem Wirkungsvolumen von etwa 20 ccm eine erwünschte Steighöhe von 100 mm zu erhalten, verwendeten wir eine etwa n/4 H_2O_2-Lösung und dazu eine etwa n/10 $KMnO_4$-Lösung. Diese wurde mit n/10 Oxalsäure eingestellt und von Zeit zu Zeit nachgeprüft, während die an sich wenig beständige Wasserstoffsuperoxydlösung vor jedem Versuch mit der Kaliumpermanganatlösung titriert wurde.

Nach einer Reihe von Vorversuchen hielt ich schließlich an folgender Arbeitsweise fest. In das Entwicklungskölbchen wurden eingefüllt:

1,3 ccm n/10 $KMnO_4$-Lösung (etwas mehr als zur Titration benötigt wurde),
5,0 ccm Schwefelsäure (1:4)

Das Schiffchen wurde beschickt mit

0,2 ccm n/4 H_2O_2.

Das Beschickungsvolumen beträgt also 6,5 ccm + Glasschiffchen.

Der gut gefettete Manometerstopfen wurde dann dicht aufgesetzt und das P.V.M. in ein konstant 18° haltendes Wasserbad gestellt und ebenso das zweite gleichbeschickte als Thermobarometer dienende P.V.M. War Temperaturausgleich eingetreten, so wurde eventuell noch Luft eingeblasen, um eine im gut ablesbaren Teil der Manometerkapillare (oberhalb des Stopfens) stehende Anfangsstellung zu erreichen, und diese an beiden Apparaten genau abgelesen. Nun wurde das erste P.V.M. aus dem Wasserbad genommen und zunächst etwa 8 Minuten geschüttelt, worauf ich es wieder ungefähr 10 Minuten in das Wasserbad stellte. Darnach wiederholte ich das Schütteln solange, bis nach jeweiligem Temperaturausgleich zwei aufeinanderfolgende Ablesungen gleich waren, was meistens in etwa 20 Minuten erreicht war. Diese Endablesung wurde, wie oben erwähnt, entsprechend den Thermobarometeränderungen, aber mit umgekehrtem Vorzeichen korrigiert. Nun kann der gleiche Versuch wiederholt werden, wobei die Flüssigkeiten im zuerst als Thermobarometer dienenden P.V.M. gemischt werden und der erste Versuchsapparat diesmal als Thermobarometer dient. Auf diese Weise können in einem Versuchsgang zwei Bestimmungen durchgeführt werden, ohne daß ein eigenes Thermobarometer benötigt wird. Das Mittel aus mehreren derartigen Versuchen, wobei zweckmäßig bei gleichen Beschickungsvolumen die H_2O_2-Menge verändert wird, wird zur Konstantenberechnung verwertet. Ein Beispiel soll die weitere Verwertung dieser Versuche zeigen.

Die durch Titration bestimmte, aus 1 ccm meiner Wasserstoffsuperoxydlösung freiwerdende Sauerstoffmenge sei 3,3232 ccm; die im Versuch verwendeten 0,2 ccm H_2O_2 entwickeln also 0,66464 ccm Sauerstoff.

Die abgelesene und eventuell korrigierte Steighöhe im P.V.M. betrage 108,4 mm. Es entspricht also 1 mm Steighöhe = 0,66464 : 108,4 = 0,006132 ccm = 6,132 cmm Sauerstoff.

cc) Untersuchungsgang.

Bei den O_2-Kapazitätsbestimmungen an Blut wurde folgende Beschickung durchgeführt:

Entwicklungskölbchen:	2,0 ccm Blut
	4,0 ccm NH_3-Lösung
Schiffchen:	0,5 ccm Kaliumferrizyanidlösung
Beschickungsvolumen:	6,5 ccm + Glasschiffchen.

Das Blut wurde wieder wie bei den vorher beschriebenen Methoden durch Eintauchen der Pipettenspitze unter die Ammoniaklösung unterschichtet und darauf durch leichtes Schwenken des Gefäßes hämolysiert (Saponinzusatz). Dann wurde das mit Kaliumferrizyanid gefüllte Schiffchen vorsichtig eingebracht, der gut gefettete Schliffstopfen aufgesetzt und gesichert. Sehr wichtig für bequemes Arbeiten mit dem Apparat ist die Wahl eines Fettes entsprechender Konsistenz zur Abdichtung des Manometerstopfens. Ich verwendete hierfür mit Vorteil Ramseyfett „weich". Nach der Hämolyse des Blutes wurde das P.V.M. möglichst bald geschlossen, um eine unnötige CO_2-Anreicherung zu vermeiden. Der weitere Untersuchungsgang spielte sich dann wie bei der Konstantenbestimmung ab. Die zuletzt abgelesene und eventuell korrigierte Steighöhe p braucht dann nur mit der Apparatkonstante k multipliziert werden, um die freigewordene Sauerstoffmenge V_0 zu erhalten

$$V_0 = k \cdot p$$

Auch hier wurde wieder, wie bei der Konstantenbestimmung beschrieben, in einem Versuchsgang eine Doppelbestimmung durchgeführt, indem abwechselnd ein P.V.M. als Entwicklungsgefäß bzw. Thermobarometer benützt wurde.

c) Eigene Untersuchungen.

Zur Prüfung der Zuverlässigkeit der angezeigten Steighöhen bei verschiedenen Gasmengen wurde die Sauerstoffabspaltung aus verschiedenen Mengen Wasserstoffsuperoxyd durchgeführt. Nachstehend die Ergebnisse:

Tabelle IX.

ccm $^{n}/_{4}$ H_2O_2	Tatsächliche-Steighöhe mm	Steighöhe pro 1 ccm H_2O_2
0,5	48,9	97,8
0,6	59,6	98,2
0,7	68,3	97,6
0,8	78,4	98,0
0,9	88,6	98,4
1,0	97,8	97,8

Die gefundenen Werte differieren nur um 0,8%, womit die Brauchbarkeit der Methode bestätigt sein dürfte.

In weiteren 8 Parallelbestimmungen ermittelte ich die relative Genauigkeit der gefundenen Werte bei Abspaltung von Sauerstoff aus der gleichen Menge Wasserstoffsuperoxyd:

Tabelle X.

Versuch	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittelwert
Steighöhe mm	104,8	105,3	105,3	104,9	105,4	104,8	105,7	104,7	105,1

Die Werte unterscheiden sich um 1% und geben also Gewähr für größte Genauigkeit der Methode. Bei den nachfolgenden O_2-Kapazitätsbestimmungen im Blut wurde zunächst wieder in sechs Parallelversuchen der Prozentsatz der Abweichungen der einzelner Ergebnisse ermittelt.

Tabelle XI.

Versuch	1	2	3	4	5	6	Mittelwert
O_2-Kap. Vol. %	18,8	18,6	18,5	18,8	18,7	18,5	18,65

Die Werte unterscheiden sich nur um etwa 1,6%, eine Genauigkeit, die erneut die zuverlässige Arbeitsweise des P.V.M. beweist. Gerade durch die Anwendung des Thermobarometers lassen sich noch geringste Temperatur- und Druckschwankungen, die bei den anderen Methoden nach außen nicht erkennbar sind, aber oft zu Fehlern führen, berücksichtigen. Dabei ist die Handhabung des P.V.M. einfach, und wenn man in der oben angegebenen Weise unter abwechselnder Verwendung zweier Apparate als Analysengefäß und als Thermobarometer arbeitet, erhält man in einem Arbeitsgang zwei voneinander unabhängige Werte.

VI. Vergleichende Untersuchungen.

a) Schrifttum.

Zahlreich sind die Angaben über Vergleiche der Haldane-Barcroftschen Methode mit der van Slykeschen. Vor allem berichten van Slyke und Stadie (40) über vergleichende Untersuchungen und finden mit der Ferrizyanidmethode Haldanes nur 95% der von ihnen gefundenen Sauerstoffmenge. Dagegen haben Macela, Ivo, Böhm und Bardos (24) in vergleichenden Untersuchungen mit der Haldaneschen und van Slykeschen Methode zur O_2-Bestimmung gefunden, daß die Werte einander so nahekommen, daß man beide Methoden als gleichwertig ansehen kann, wobei der Haldaneschen wegen ihrer einfacheren Ausführung der Vorzug zu geben sei. In letzter Zeit haben sich Krupski und seine Mitarbeiter (20) mit der O_2-Kapazitätsbestimmung befaßt: O. Müller (28) stellte Untersuchungen über die O_2-Kapazität des Blutes gesunder und kranker Pferde und Rinder an und verwendete das Barcroftsche Differentialmanometer. Kurze Zeit darauf führte G. Huber (17) vergleichende Untersuchungen über die O_2-Kapazität mit dem Barcroftschen Differentialapparat und der Methode nach van Slyke aus und fand die wichtige Tatsache, daß nach van Slyke durchwegs höhere Kapazitätszahlen als nach Barcroft erhalten werden. Die prozentualen Abweichungen betrugen im Mittel + 9%, bei Anaemien im höchsten Fall + 17%. Als Gründe für die höheren Kapazitätszahlen werden angegeben:

1. Van Slyke läßt das Entweichen des Sauerstoffs im Vakuum erfolgen und überdies bei kräftigerem Schütteln, als dies beim Barcroft-Apparat möglich ist.

2. Nach Fr. Müller (26) sind in bestimmten Blutarten und bei bestimmten Krankheiten im Blut Stoffe vorhanden, die eine Sauerstoffzehrung in der Birne des Barcroftmanometers verursachen.

3. Entsprechend einer von Warburg (49) gefundenen Erscheinung, daß Erythrozyten bei Gegenwart von Methylenblau eine zusätzliche Atmung aufweisen, soll der dabei stattfindende Reaktionsmechanismus der Sauerstoffzehrung auch durch Ferrizyankalium bewirkt werden können und diese Fehlerquelle wohl bei der Barcroftmethode, nicht aber bei der van Slykeschen auftreten, weil hier kein Ammoniakzusatz erfolgt und überdies die Messung in viel kürzerer Zeit beendet ist.

4. Das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes ist in unhämolysiertem Zustand größer als nach der Hämolyse (Sendroy 39). Van Slyke sättigt das unhämolysierte Blut mit Luft, während Barcroft das Blut vor der Sättigung mit Ammoniak und Saponin hämolysiert.

5. Weitere Ursachen für die Abweichungen werden spezifischen Erkrankungen (Anaemien) zugeschrieben.

Seit diesen Feststellungen von G. Huber hat Krupski O_2-Kapazitätsbestimmungen nur mehr nach der Methode nach van Slyke durchführen lassen, z. B. von H. Osterwalder (33) in Fortsetzung der Huberschen Arbeiten.

b) Eigene Untersuchungen.

Es war nun von Interesse, weitere vergleichende Untersuchungen durchzuführen, und zwar verwendete ich die vier in Kapitel II bis V beschriebenen Methoden. Mit jedem Apparat wurden 2, von jeder Blutprobe also insgesamt 8 Parallelbestimmungen ausgeführt.

Das Blut stammte wieder von Schlachttieren und war zur Verhinderung der Gerinnung mit Oxalat versetzt. Die Untersuchungen wurden ausnahmslos am Tag der Entnahme durchgeführt.

aa) Material.

Zur besseren Kenntlichmachung des Nährzustandes der Tiere sind bei den Rindern auch die zur Zeit gebräuchlichen Schlachtwertklassen (AA = sehr gut, A = gut, B = mittelmäßig, C = schlecht, D = sehr schlecht genährt) angegeben.

Untersuchte Tiere:

Fall	I.	Ochse, Höhenfleckvieh	6 Jahre	Schlachttier	(B)
„	II.	Ochse, Einf. Geb.-Vieh	8 „	„	(AA)
„	III.	Stier, Einf. Geb.-Vieh	4 „	„	(B)
„	IV.	Kuh, Höhenfleckvieh	8 „	„	(C)
„	V.	Ochse, Höhenfleckvieh	5 „	„	(A)
„	VI.	Kuh, Höhenfleckvieh	2 „	Geb.-Klinik (hochträchtig)	
„	VII.	Kuh, Einf. Geb.-Vieh	4 „	Schlachttier	(B)
„	VIII.	Kuh, Höhenfleckvieh	10 „	„	(D)
„	IX.	Kuh, Höhenfleckvieh	7 „	„	(C)
„	X.	Kalb, Höhenfleckvieh	8 Wochen	„	
„	XI.	Kalb, Höhenfleckvieh	6 „	„	
„	XII.	Schwein, Landschwein	9 Monate	„	
„	XIII.	Schwein, Landschwein	4 Jahre	„	(Mutterschwein)
„	XIV.	Pferd, Wallach, mittelschweres Arbeitspferd	18 „	„	
„	XV.	Pferd, Wallach, schweres Arbeitspferd	ca. 22 „	„	
„	XVI.	Schwein, Landschwein	9 Monate	„	

bb) Ergebnisse.

In nachstehender Tabelle XII ist wie üblich die O_2-Kapazität in ccm Sauerstoff in 100 ccm Blut angegeben.

Tabelle XII.

Fall	Tierart	O_2-Kapazität (Vol. %) nach								
		Barcroft		Winterstein		P. B. M.		van Slyke		Mittel
I	Rind	18,2 17,8	18,0			18,3 18,1	18,2	18,1 18,5	18,3	18,2
II	"	22,0 22,0	22,0	21,9 21,6	21,8	22,7 22,2	22,5	22,9 22 8	22,9	22,3
III	"	20,1 19,9	20,0	19,9 19,7	19,8	20,9 20,7	20,8	21,5 21,2	21,4	20.5
IV	"	13,9 13,6	13,7	13,5 13,3	13,4	14,3 14,5	14,4	13,8 13,7	13,8	13,8
V	"	21,6 21,3	21,5	21,6 21,3	21,5	21,9 21,7	21,8	22.6 22,4	22,5	21,8
VI	"	13,5 13,3	13,4	13,7 13,5	13,6	14,0 13,8	13.9	13,3 13,5	13,4	13.6
VII	"	16,4 16,2	16,3	16,6 16,4	16,5	16,5 16,7	16,6	17,1 16,6	16,9	16,6
VIII	"	13,7 13,5	13,6	13,2 13,3	13,3	14,1 14,2	14,2	13,8 13,6	13,7	13,7
IX	"	13,6 13,8	13,7	13,8 13,8	13,8	14,3 14,1	14,2	14,1 13,8	13,9	13,9
X	Kalb	14.6 14.8	14,7	14,3 14,5	14,4	15,5 —	15,5	15,4 14,7	15,1	14.9
XI	"	11,1 11,5	11,3	11,1 —	11,1	12,7 12,5	12,6	12,5 11,7	12,1	11,8
XII	Schwein	14,8 14,6	14,7	14,5 14,7	14,6	15,7 15,5	15.6	15,0 15,3	15,2	15,0
XIII	"	20,4 20,7	20,6	20,2 20,1	20,2	20,8 21,0	20,9	22,0 21,1	21,6	20,8
XVI	"	17,5 17.8	17,7	17,1 17,5	17,3	18.3 17,7	18,0	18,4 18,2	18,3	17,8
XIV	Pferd	12,3 11,9	12,1	11,9 12,0	11,9	12,5 12,3	12,4	11,9 12,2	12,1	12,1
XV	"	15,3 15,0	15,2	15,5 15,2	15,4	16,0 15,8	15.9	15,1 15,8	15,5	15,5

Ein erster Überblick über diese Ergebnisse zeigt zunächst, daß so große systematische Differenzen zwischen den einzelnen Apparaten, wie sie Krupsky und Mitarbeiter (20) zwischen dem Barcroftschen und van Slykeschen Verfahren gefunden haben, bei meinen Versuchen nicht aufgetreten sind.

Man erkennt aber, daß der van Slyke-Apparat und das P.V.M. im allgemeinen höhere Werte als der Barcroft-Apparat und der Wintersteinsche geben. Um diese Abweichungen systematisch zu untersuchen, habe ich für jeden einzelnen Versuch die mittlere O_2-Kapazität aus den Angaben aller vier Apparate berechnet, dazu die Abweichung jedes einzelnen Apparates in Prozent dieses Mittels und außerdem die prozentuale Abweichung der drei ohne Vakuumextraktion arbeitenden Methoden gegenüber dem van Slyke-Verfahren. Diese Zahlen sind in der folgenden Tabelle XIII ohne Rücksicht auf die Tierart nach der Größe der O_2-Kapazität geordnet aufgeführt. Die systematischen Abweichungen aller Ergebnisse jedes einzelnen Apparates vom Mittelwert sind als Mittel der Einzelabweichungen am Schlusse der Tabelle enthalten. Außerdem sind in den beiden letzten Zeilen der Tabelle noch die größten Differenzen nach oben und nach unten sowie insgesamt gegenüber den Vergleichswerten angegeben.

Tabelle XIII

Fall	Mittel der O_2-Kapaz.	Abweichung der O_2-Kapazität (%) nach: Barcroft gegen Mittel	Barcroft gegen v. Slyke	Winterstein gegen Mittel	Winterstein gegen v. Slyke	P.B.M. gegen Mittel	P.B.M. gegen v. Slyke	v. Slyke gegen Mittel
II	22,3	—1,3	—4,1	—2,2	—4,9	+0,9	—1,8	+2,7
V	21,8	—1,4	—4,6	—1,4	—4,6	±0,0	—3,2	+3,2
XIII	20,8	—1,0	—4,8	—2,9	—6,7	+0,5	—3,4	+3,8
III	20,5	—2,4	—6,8	—3,4	—7,8	+1,5	—2,9	+4,4
I	18,2	—1,1	—1,6	—	—	±0,0	—0,6	+0,5
XVI	17,8	—0,6	—3,4	—2,8	—5,6	+1,1	—0,7	+2,8
VII	16,6	—1,8	—3,6	—0,6	—2,4	±0,0	—1,8	+1,8
XV	15,5	—1,9	—1,9	—0,6	—0,6	+2,6	+2,6	±0,0
XII	15,0	—2,0	—3,3	—2,7	—4,0	+4,0	+2,7	+1,3
X	14,9	—1,3	—2,7	—3,4	—4,7	+4,0	+2,7	+1,3
IX	13,9	—1,4	—1,4	—0,7	—0,7	+2,2	+2,2	±0,0
IV	13,8	—0,7	—0,7	—2,9	—2,9	+4,3	+4,3	±0,0
VIII	13,7	—0,7	—0,7	—2,9	—2,9	+3,6	+3,6	±0,0
VI	13,6	—1,5	±0,0	±0,0	+1,5	+2,2	+3,7	—1,5
XIV	12,1	±0,0	±0,0	—1,7	—1,7	+2,5	+2,5	±0,0
XI	11,8	—4,2	—6,7	—5,9	—8,4	+6,8	+4,2	+2,5
Mittel der Einzelabweichungen		—1,5	—2,8	—2,3	—3,8	+2,3	+0,8	+1,5
Größte Diff.								
a) nach oben		±0,0	±0,0	±0,0	+1,5	+6,8	+4,3	+4,4
b) nach unten		—4,2	—6,8	—5,9	8,4	±0,0	—3,4	—1,5
c) insgesamt		4,2	6,8	5,9	9,9	6,8	7,7	5,9

1. Vergleich mit dem Mittelwert.

Nimmt man zunächst ohne Bevorzugung einer der Methoden den arithmetischen Mittelwert aller vier Doppelbestimmungen jeder Blutprobe als Vergleichsbasis an, so liegen die in Prozenten dieses Mittelwertes ausgedrückten Abweichungen bei Barcroft und Winterstein mit durchschnittlich —1,5 bzw. —2,3% unter, beim van Slyke-Apparat und P.V.M. mit durchschnittlich +1,5 bzw. +2,3% stets über dieser Norm. Auffällig ist, daß die Werte des van Slykeschen Apparates fünfmal überhaupt nicht, einmal nur um 0,5% vom Mittelwert verschieden sind; auch beim P.V.M. fällt die gefundene O_2-Kapazität dreimal mit dem Mittel zusammen, in weiteren drei Fällen differiert sie um höchstens 1%.

2. Vergleich mit van Slyke-Wert.

Geht man von den van Slyke-Werten als Vergleichsgrundlage aus, so bleiben Barcroft und Winterstein mit —2,8 bzw. —3,8% hinter dem Sollwert zurück, während das P.V.M. mit +0,8% nur unbedeutend über dieser Basis liegt. Bei Barcroft und Winterstein ist die Differenz gegenüber van Slyke nur einmal O (Fall XIV) bzw. positiv (Fall VI); in allen übrigen Fällen ist sie systematisch negativ. Die beiden Apparate liefern also, verglichen mit unserem van Slyke-Blutgasapparat fast durchweg zu niedrige O_2-Kapazitäten. Die mit dem P.V.M. gefundenen Werte sind fast gleichmäßig um die van Slyke-Norm verteilt, und zwar liegen sie neunmal darüber und siebenmal darunter. Demgemäß ist das Mittel dieser Differenz (+0,8%) nicht als systematische Abweichung anzusehen. Auffallend ist andererseits die erhebliche Streuung der P.V.M.-Werte, die zwar beim P.V.M. nicht absolut größer ist als bei den anderen Apparaten aber häufiger. Dabei stimmen jedoch die Parallelbestimmungen mit dem P.V.M. untereinander sehr befriedigend überein (siehe Tabelle XI). In gewissem Grade läßt sich das auch bei den drei anderen Apparaten verfolgen: Die Parallelbestimmungen, die mit dem gleichen Blut wiederholt wurden (siehe Tabellen IV, VII, VIII), zeigten viel seltener Differenzen über 2,5% des Wertes als die Simultanbestimmungen verschiedener Blutproben mit den vier Vergleichsapparaten. Es scheint, als würden sich Blutproben von verschiedenen Individuen in den einzelnen Apparaten je nach dem Gehalt an Substanzen, welche die O_2-Abgabe hemmen, etwas verschieden verhalten.

3. Abhängigkeit vom Hämoglobingehalt.

In der Tabelle XIII sind die prozentualen Abweichungen nach abnehmender O_2-Kapazität von 22,3 bis 11,8 Volumprozent geordnet. Dabei zeigt sich unverkennbar eine gewisse Abhängigkeit der Größe der Abweichungen vom absoluten Betrag der O_2-Kapazität. Bei Kapazitätszahlen über 16 Volumenprozent sind z. B. die prozentualen Differenzen des P.V.M. gegenüber unserem van Slyke-Apparat stets deutlich negativ, bei den Blutproben mit kleinem Sauerstoffgehalt —

von 11,8 bis 16 Volumprozent — sind sie positiv. Im gleichen Sinne ändern sich beim Barcroft-Apparat und weniger deutlich auch beim Wintersteinschen Apparat die Abweichungen gegenüber van Slyke mit dem Sauerstoffgehalt der Blutprobe, nur daß hier die Differenz von stark negativen Werten bei hoher Kapazität sich nur etwa bis auf 0 vermindert, ohne aber positiv zu werden. Das läßt sich auch so ausdrücken: In den Apparaten von Barcroft und Winterstein wird nur bei niedrigem Sauerstoffgehalt der Blutprobe aller O_2 in Freiheit gesetzt. Warum das P.V.M., das doch nach demselben Prinzip wie die Barcroft- und Wintersteinschen Apparate ohne Vakuumextraktion arbeitet, im Mittel so gut mit dem van Slyke-Apparat übereinstimmt, kann vorerst nicht entschieden werden. Ein Grund ist vielleicht in dem größeren Querschnitt der Manometerkapillare des P.V.M. zu suchen, in der die Manometerflüssigkeit weniger Reibungswiderstände findet als z. B. im Barcroft-Manometer.

Von Interesse dürfte nun noch sein, welcher der vier benützten Apparate zur O_2-Kapazitätsbestimmung besonders für umfangreichere Reihenbestimmungen bei geringstem Aufwand an Zeit und Kosten am geeignetsten ist. Der Anschaffungspreis für die Barcroftschen und Wintersteinschen Apparate sowie unsere selbst hergestellte van Slyke-Konstruktion sind ungefähr dieselben, während ein P.V.M.-Paar nicht einmal die Hälfte dieses Betrages erfordert. Der Zeitaufwand ist durch die Möglichkeit der Doppelbestimmung in einem Versuchsgang beim P.V.M. unbedingt der geringste; zwei Bestimmungen mit dem Barcroft- oder Winterstein-Apparat erfordern fast das Doppelte an Zeit, während eine van Slyke-Bestimmung noch länger dauert (das unerläßliche sofortige Spülen eingerechnet). Da für Absolutbestimmungen die Apparate nach Barcroft und Winterstein wegen ihrer deutlichen, wenen auch geringen Fehlbeträge wohl nicht maßgebend sein können, sind dafür nur der van Slyke-Apparat und das P.V.M. verwendbar. Es kann nicht geleugnet werden, daß die Handhabung des ersteren umständlich ist, eine gewisse Einübung und mehr Zeit erfordert, während das Arbeiten mit dem P.V.M. in allen Teilen einfacher und müheloser ist. Zieht man ferner den Umstand in Betracht, daß es bei geringerem Anschaffungspreis eine Mehrzahl von Bestimmungen in verhältnismäßig kurzer Zeit durchzuführen gestattet, so muß man ihm besonders für Serienuntersuchungen unbedingt den Vorzug geben.

VII. Zusammenfassung.

1. Es werden vier Methoden der Bestimmung der O_2-Kapazität beschrieben, nämlich nach Barcroft, van Slyke, Winterstein und Paechtner.

2. In Simultanbestimmungen der O_2-Kapazität einer Blutprobe mit den vier beschriebenen Apparaten ergeben sich bei 16 untersuchten Fällen folgende Abweichungen:

a) gegen das Mittel aus allen gefundenen Werten: Barcroft —1,5%, Winterstein —2,3%, PVM. +2,3%, van Slyke +1,5%;

b) gegen den van Slyke-Wert: Barcroft —2,8%, Winterstein —3,8%, P.V.M. +0,8%.

VIII. Anhang.

Tabelle XIV.

Werte der Einzelmessungen für die Bestimmungen der Gefäßkonstanten des Barcroft-Apparates bei verschiedenen Birnenfüllungen.

Birnenfüllung	Gasvolumen	Überdruck	Konstante
ccm	ccm	mm	
0,0	0,169	41,7	4,052
"	0,164	41,8	3,999
"	0,129	33,0	4,000
"	0,085	21,5	3,950
"	0,161	39,9	4,034
"	0,152	38,0	4,000
"	0,181	46,0	3,934
"	0,160	40,8	3,921
"	0,142	36,3	3,912
"	0,150	38,1	3,989
		Mittel:	3,979
1,0	0,169	44,2	3,823
"	0,176	45,2	3,893
"	0,162	41,9	3,865
"	0,155	39,5	3,924
"	0,166	42,1	3,948
"	0,195	48,8	3,991
"	0,159	40,2	3,955
"	0,201	50,4	3,988
"	0,185	47,0	3,936
"	0,180	46,6	3,862
		Mittel:	3,918

Birnenfüllung	Gasvolumen	Überdruck	Konstante
ccm	ccm	mm	
2,0	0,188	51,2	3,771
„	0,214	56,9	3,760
„	0,185	49,4	3,744
„	0,202	53,0	3,800
„	0,210	55,1	3,811
„	0,206	54,8	3,763
„	0,213	56,2	3,790
„	0,216	56,7	3,809
„	0,164	43,0	3,813
„	0,144	38,4	3,750
		Mittel:	3,781
3,2	0,176	49,9	3,547
„	0,169	47,6	3,550
„	0,158	44,4	3,558
„	0,144	40,3	3,573
„	0,174	48,9	3,558
„	0,223	62,4	3,573
„	0,216	60,4	3,576
„	0,187	52,3	3,575
„	0,184	51,3	3,586
„	0,236	66,1	3,570
„	0,161	44,8	3,581
„	0,201	56,4	3,563
„	0,189	52,8	3,579
„	0,210	59,2	3,547
„	0,179	50,2	3,565
„	0,118	33,0	3,575
„	0,193	53,8	3,588
		Mittel:	3,569

Birnenfüllung	Gasvolumen	Überdruck	Konstante
ccm	ccm	mm	
4,0	0,193	55,5	3,477
"	0,213	60,4	3,526
"	0,218	62,1	3,510
"	0,222	62,8	3,535
"	0,199	55,9	3,559
"	0,194	52,7	3,581
"	0,171	48,4	3,533
"	0,182	51,7	3,518
"	0,187	52,4	3,568
"	0,168	47,6	3,529
		Mittel:	3,533
5,0	0,204	59,8	3,411
"	0,186	54,2	3,431
"	0,181	52,3	3,460
"	0,182	52,4	3,473
"	0,167	47,8	3,493
"	0,168	48,4	3,471
"	0,195	56,0	3,482
"	0,191	54,7	3,491
"	0,188	54,0	3,480
"	0,193	55,2	3,496
		Mittel:	3,469

Literatur-Verzeichnis.

1. Abeloos, Barcroft u. a.: J. of Physiol. **66**, 262—266 (1928).
2. Barcroft und Haldane: J. of Physiol. **28**, 232 (1902).
3. Barcroft: J. of Phsiol. **37**, 12 (1908).
4. Derselbe: Ergebnisse der Physiologie. VII, 699, 771 (1908).
5. Derselbe: The Respiratory Function of the Blood. Cambridge (1914).
6. Derselbe: Die Atmungsfunktion des Blutes. Berlin (1928).
7. Brooks und Hughes: J. Nutrit. **5**, 35—38 (1932).
8. Deutsch, Bela: Biochem. Z. **274**, 299—304 (1934).
9. Elliot, Hall, Huggett: J. of Physiol. **82**, 160—171 (1934).
10. Engelkes: Diss. Utrecht (1922).
11. Foster und Johnson: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **28**, 929—932 (1931).
12. Gram: Acta med. scandinav. **57/1**, 27—40 (1922).
13. Greppi, Enrico: Boll. d. soc. med. chirurg., Pavia, **36/5**, 465—475 (1924).
14. Haldane: J. of Physiol. **22**, 298 (1898).
15. Derselbe: J. of Physiol. **25**, 295 (1900).
16. Harrington: J. of Physiol. **58**, 4—5, XXIV (1924).
17. Huber, Gottfried: Diss., Zürich (1934).
18. Hüfner: Archiv f. Physiol., 491 (1899).
19. Hurxthal und Bock: J. of Biol. Chem. **81**, 681—685 (1929).
20. Krupsky, Almasy, Osterwalder: D.T.W., 515 (1935).
21. Kruse: American Journ. of Physiol. **59/1**, 449 (1922).
22. Kuhl: Pflügers Arch. f. Physiol. **176**, 263 (1920).
23. Luy, P.: Biochem. Z. **201**, 165 (1928).
24. Macela, Ivo, Böhm und Bardos: Bratislav. lek. Listy **10**, 609—612 (1930).
25. Masuda, Sogi: Biochem. Z. **156**, 21—34 (1925).
26. Müller, Fr.: Biol. Gasanalyse in Abderhaldens Handbuch d. biochem Arbeitsmethoden, Berlin (1926).
27. Derselbe: Pflügers Archiv **103**, 541 (1904).
28. Müller, Otto: Diss. Zürich (1933).
29. Münzer und Neumann: Biochem. Z. **81**, 319 (1917).
30. Ohno, Masataka: Zeitschrift f. d. Ges. exp. Med. **53**, 82—90 (1926).
31. Orias: Rev. Soc. argent. Biol. **6**, 363—384 (1930).
32. Derselbe: C. r. Soc. Biol., Paris **105**, 305—303 (1930).
33. Osterwalder: Diss. Zürich (1935).
34. Paechtner, J.: Zur Technik der gasometrischen Analyse; Vortrag geh. am 12. 2. 1924 im Bezirksverein Hannover des Vereins Deutscher Chemiker; Ref. in Zeitschr. f. angew. Chemie **37**, 22 (1924).

35. Poulton: J. of Physiol. **53/5**, LXI (1926).
36. Rabinovitch: J. of laborat. a. clin. med. **IX/2**, 120—123 (1923).
37. Schneider, J.: Diss. München (1936).
38. Sendroy, jun. und Liu: J. of Biol. Chem. **89**, 133—152 (1930).
39. Sendroy jun.: J. of Biol. Chem. **91**, 307—323 (1931).
40. Slyke, van und Stadie: J. of Biol. Chem. **49/1**, (1921).
41. Slyke, van: Proc. of the nat. acad. of sciences **7/8**, 229—231 (1921).
42. von Slyke und Neill: J. of Biol. Chem. **61**, 523—573 (1924).
43. van Slyke: J. of Biol. Chem. **66**, 409 (1925).
44. Derselbe: J. of Biol. Chem. **73**, 121 (1927).
45. Derselbe: Abderhaldens Handbuch d. biochem. Arbeitsmethoden **IV/4**, 1245 (1926).
46. van Slyke und Hiller: J. of Biol. Chem. **78**, 807—819 (1928).
47. van Slyke und Hiller: J. of Biol. Chem. **84**, 211—216 (1928).
48. Stärker, W.: Diss. Hannover (1926).
49. Warburg, O.: Biochem. Z. **233**, 240—242 (1931).
50. Wertheimer: Biochem. Z. **106**, 1—22 (1920).
51. Winterstein, H.: Biochem. Z. **46**, **440** (1912).
52. Yamakita, Matajuro: Tohoku journ. of exp. med. **3/5—6**, 305—316 (1922).
53. Zeynek, von: Archiv f. Physiol., 460 (1899).
54. Paechtner, J.: Das Blut und die Lymphe; Ellenberger-Scheunert: Vergleichende Physiologie der Haussäugetiere, Berlin, S. 57 (1925).
55. Baustaedt: Diss., Hannover (1921).
56. Borgmann: Diss., Hannover (1922).
57. Ehlers: Diss., Hannover (1922).
58. Stickan: Diss., Hannover (1922).
59. Waller: Diss., Hannover (1924).

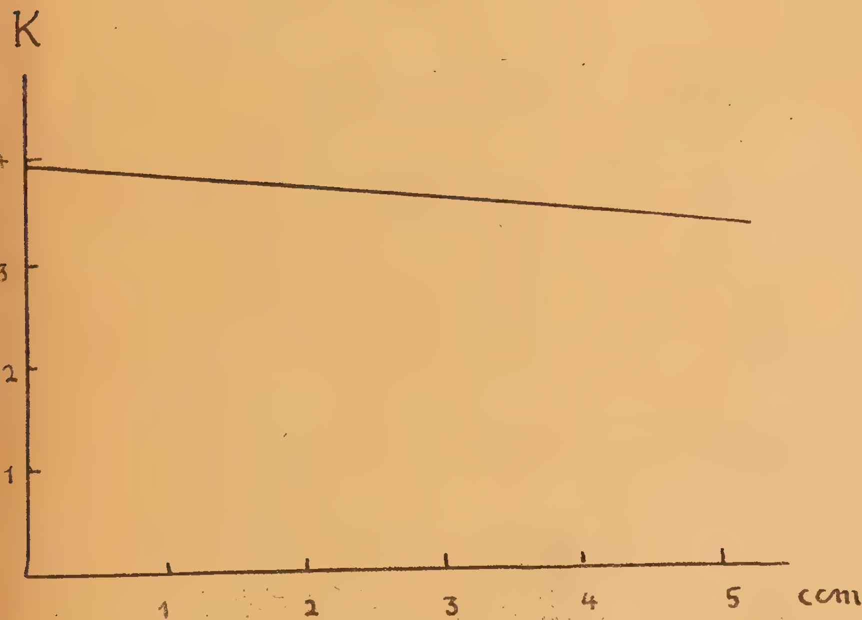
Am Schluße meiner Arbeit fühle ich mich verpflichtet Herrn Prof. Dr. Pächtner für die Überlassung des Themas und für die Anregungen während meiner Untersuchungen herzlichst zu danken. Ebenso möchte ich nicht unterlassen Herrn Dr. M. Gürsching für seine bereitwillige Unterstützung bei der Ausarbeitung der Methodik und Durchführung der Untersuchungen bestens zu danken.

Lebenslauf.

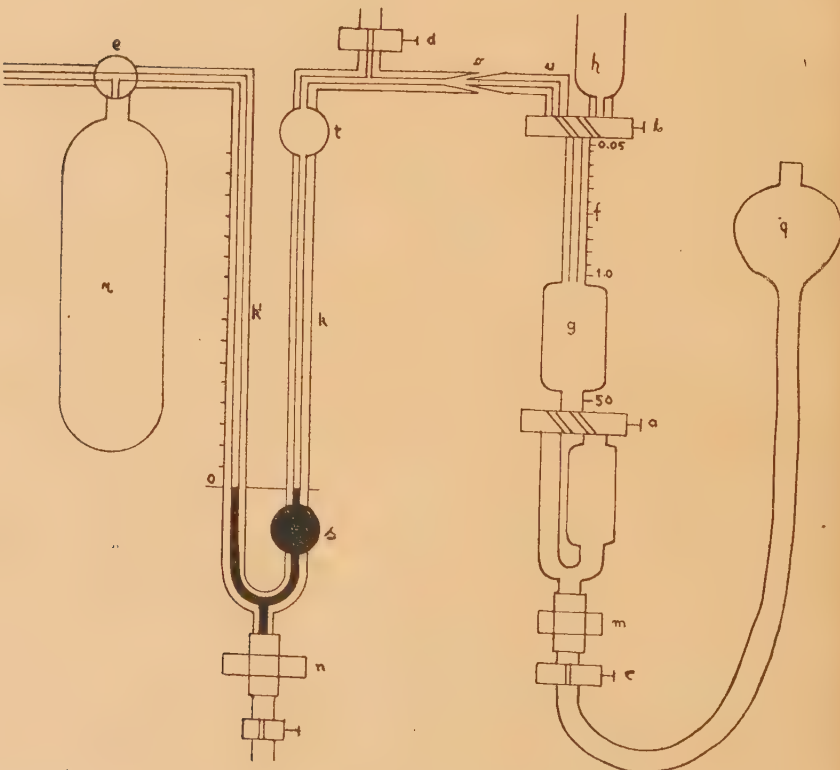
Geboren am 16. September 1912 in Weilheim/Oberbayern, besuchte ich dort die Volksschule und dann die Realschule. Ab 7. Klasse gehörte ich der Oberrealschule III in München an und bestand dort Ostern 1932 meine Reifeprüfung.

Vom Sommersemester 1932 bis Sommersemester 1934 studierte ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München, wo ich auch im Wintersemester 1933/34 die Tierärztliche Vorprüfung bestand. Im Wintersemester 1934/35 setzte ich meine Studien an der Tierärztlichen Hochschule Hannover, im Sommersemester 1935 an der Tierärztlichen Fakultät der Universität Gießen und ab Wintersemester 1935/36 wieder an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München fort, an der ich im Wintersemester 1936/37 die Tierärztliche Prüfung ablegte.

Werte für die Gefäßkonstante bei verschiedenen Volumen.



Apparat zur Bestimmung der O_2-Kapazität nach van Slyke.
(modifiziert)



Ponderovolumeter nach Paechtner.

